

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

552161

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
21. Oktober 2004 (21.10.2004)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 2004/089409 A2**

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: **A61K 41/00**

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2004/003809

(22) Internationales Anmeldedatum:  
8. April 2004 (08.04.2004)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
103 16 566.5 10. April 2003 (10.04.2003) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von  
US): **HAEMATO-SCIENCE GMBH** [DE/DE]; Biotechno-  
logiepark, TGZ III, 14943 Luckenwalde (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **PETROV, Peter**  
[BY/BY]; Surganova str. 22-16, Minsk, 220012 (BY).  
**TRUKHACHEVA, Tatsiana** [BY/BY]; Leschinskogo Str.  
7-481, Minsk, 220140 (BY). **ISAKAU, Henadz** [BY/BY];  
Gorodetskaya Str. 32-27, Minsk, 220125 (BY). **HAURY-  
LAU, Mikhail** [BY/BY]; Kirova Str. 8-26, Minsk, 220050  
(BY). **KAPLAN, Mikhail** [RU/RU]; Kaluzhskaya oblast,  
K. Marks str. 57-44, Obninsk, 249020 (RU).

(74) Anwälte: **WEICKMANN & WEICKMANN** usw.; Post-  
fach 860 820, 81635 München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für  
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,  
AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,  
CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES,  
FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,  
KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD,  
MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG,  
PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM,  
TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM,  
ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für  
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,  
GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,  
ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,  
TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,  
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT,  
RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA,  
GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Veröffentlicht:**

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu ver-  
öffentlichen nach Erhalt des Berichts

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Ab-  
kürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Co-  
des and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der  
PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: AGENT FOR THE PHOTODYNAMIC DIAGNOSIS AND THERAPY OF MALIGNANT TUMORS

(54) Bezeichnung: MITTEL FÜR DIE PHOTODYNAMISCHE DIAGNOSTIK UND THERAPIE VON BÖSARTIGEN TUMO-  
REN

(57) Abstract: The invention relates to an agent for the photodynamic diagnosis and therapy of oncological diseases, which is based  
on chlorin E<sub>6</sub> compounds, and novel medicinal uses of chlorin E<sub>6</sub> compounds.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Mittel für die photodynamische Diagnostik und Therapie von onkologischen  
Krankheiten auf Basis von Chlorin E<sub>6</sub>-Verbindungen, sowie neue medizinische Verwendungen von Chlorin E<sub>6</sub>-Verbindungen.



WO 2004/089409 A2

## **Mittel für die photodynamische Diagnostik und Therapie von bösartigen Tumoren**

5

### **Beschreibung**

Die Erfindung betrifft ein Mittel für die photodynamische Diagnostik und Therapie von onkologischen Krankheiten auf Basis von Chlorin E<sub>6</sub>-Verbindungen, sowie neue medizinische Verwendungen von Chlorin E<sub>6</sub>-Verbindungen.

10

Im russischen Patent Nr. 2152790 wird ein Mittel für die photodynamische Diagnostik und Therapie von onkologischen Krankheiten offenbart, welches aus 40 bis 90 Gew.-% Chlorin E<sub>6</sub> und 60 bis 10 Gew.-% Polyvinylpyrrolidon besteht.

15

Für die photodynamische Krebstherapie sind Photosensibilisatoren erforderlich. Dabei werden diese Sensibilatoren injiziert und reichern sich vorwiegend in den vom Krebs befallenen Zellen an. Durch gezielte Lasereinwirkung mit bestimmter Wellenlänge wird die Produktion von cytostatischen Stoffen in den Krebszellen, welche den Photosensibilisator enthalten, induziert. Dies führt zu einer Tumornekrose.

20

Bekannte Sensibilisatoren für diesen Zweck sind Hämatoporphyrine, Phthalozyanine und Naphthalozyanine. In der Praxis haben sich dabei die Sensibilisatoren auf Porphyrinbasis aufgrund geringer Phototoxizität und geeigneter Empfindlichkeit für die zur Anwendung in Betracht kommenden Laser bewährt.

25

Besonders geeignet erwies sich das oben definierte Kombinationspräparat aus dem Komplex von Chlorin E<sub>6</sub> und Polyvinylpyrrolidon (PVP). Das Chlorin E<sub>6</sub> besitzt intensive Adsorptionsbanden im Spektralbereich  $660 \pm 10$

30

- 2 -

nm, der für die photodynamische Therapie von besonderer Bedeutung ist. Jedoch ist für die Hämatoporphyrine der Extinktionskoeffizient relativ gering. Für eine erfolgreiche photodynamische Therapie muss daher eine höhere Konzentration dieses Sensibilisators in die Krebszelle gebracht werden. Da die Porphyrine zum Teil Phototoxizität aufweisen, besteht der  
5 Vorteil von Chlorin E<sub>6</sub> in einer raschen Ausscheidung nach Verabreichung. 24 Stunden nach der Verabreichung sind nur noch 4 bis 6 % der verabreichten Menge im menschlichen Organismus nachzuweisen.

10 Chlorin E<sub>6</sub> und seine Salze sind jedoch relativ instabil und zwar sowohl in Lösung als auch in lyophilisiertem Zustand bei Zimmertemperatur.

Der oben beschriebene Komplex von Chlorin E<sub>6</sub> mit Polyvinylpyrrolidon in der angegebenen Zusammensetzung weist eine deutlich verbesserte Stabilität auf und ermöglicht daher eine wesentlich bessere Anwendung in der  
15 Praxis. Die Anreicherung in Krebsgewebe im Vergleich zum gesunden Gewebe ist jedoch immer noch nicht ganz zufriedenstellend.

Der Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, den obigen Nachteil zu  
20 beseitigen und ein Mittel auf Basis von Chlorin E<sub>6</sub> für die photodynamische Therapie bereitzustellen, welches nicht nur eine für die Handhabung gut geeignete Stabilität auch in Lösung aufweist, sondern einen wesentlich verbesserten Anreicherungsfaktor im Krebsgewebe im Vergleich zum gesunden Gewebe besitzt. Eine weitere Aufgabe der Erfindung ist die  
25 Bereitstellung von weiteren medizinischen Verwendungen von Chlorin E<sub>6</sub>.

Gelöst wird diese Aufgabe erfindungsgemäß durch ein Mittel für die photodynamische Therapie auf Basis von Chlorin E<sub>6</sub> und seinen Derivaten und Polyvinylpyrrolidon, welches dadurch gekennzeichnet ist, dass es Chlorin  
30 E<sub>6</sub> und Polyvinylpyrrolidon im Gewichtsverhältnis 1:( $> 1,5$ ) enthält oder daraus besteht. Bevorzugt ist ein Gewichtsverhältnis von Chlorin E<sub>6</sub> zu Polyvinylpyrrolidon von 1 : ( $> 1,5$  bis 25), vorzugsweise von 1:2, stärker

- 3 -

bevorzugt 1:3, stärker bevorzugt 1:5, noch stärker bevorzugt 1:10, noch stärker bevorzugt 1:15, noch stärker bevorzugt 1:25.

5 Vorzugsweise liegt also das Gewichtsverhältnis im Bereich von etwa 1:(5 bis 25), vorzugsweise 1:(10 bis 25), stärker bevorzugt 1: (15 bis 25), stärker bevorzugt 1 : (15 bis 20). Vorzugsweise liegen das Chlorin E<sub>6</sub> und das Polyvinylpyrrolidon als Komplex vor.

10 Überraschenderweise wird bei einem Mittel der vorstehend angegebenen Zusammensetzung eine um ein mehrfaches bessere Selektivität für die Anreicherung des Chlorin E<sub>6</sub> im Krebsgewebe gegenüber dem gesunden Gewebe erzielt. Diese wesentlich erhöhte Anreicherung gestattet nicht nur die Verwendung einer geringeren Dosis des Mittels, sondern ermöglicht auch eine vertiefte Wirksamkeit der Laserbehandlung, die von bisher etwa  
15 1 cm Eindringtiefe durch die Haut in das Gewebe bis zum Doppelten gesteigert werden kann.

Zur Herstellung des erfindungsgemäßen Mittels wird zweckmäßig Polyvinylpyrrolidon in einer für die Injektion geeigneten wässrigen Basis gelöst und  
20 dann unter ständigem Umrühren Chlorin E<sub>6</sub> in der zur Erzielung der angestrebten Zusammensetzung mehr als 1,5 und bis zu 25 Gew.-Teile PVP auf 1 Gew.-Teil Chlorin E<sub>6</sub> erforderlichen Menge zugesetzt und gerührt, bis eine völlig homogene Mischung entstanden ist. Die erhaltene Lösung kann steril  
25 filtriert werden und lässt sich gefriertrocknen und in dieser Form bei Normaltemperatur aufbewahren. Die Formulierung kann auch so hergestellt werden, dass sie für die systemische und/oder lokale Wirkung durch parenterale, enterale und/oder topische Verabreichung geeignet ist.

Die erzielte überlegene Wirksamkeit des erfindungsgemäßen Mittels ist  
30 überraschend, da im oben erwähnten russischen Patent ausdrücklich vor der Verwendung von mehr als 60 Gew.-% Polyvinylpyrrolidon gewarnt wird, da überschüssige Mengen nicht mehr mit Chlorin E<sub>6</sub> reagieren und

unnötigen Ballast darstellen. Dieses Vorurteil wird durch die Erfindung überwunden und eine um ein mehrfaches höhere Anreicherung erzielt, ohne die Beständigkeit des Komplexes hierbei zu verringern.

5 Als Polyvinylpyrrolidon wird ein Präparat mit 6 bis 12 kDa bevorzugt.

Im Tierversuch wurde bei einer Dosierung des erfindungsgemäßen Mittels von 1 bis 5 mg/kg und Laserbestrahlung mit einer Wellenlänge von 660 nm, Energieexposition 50 J/cm<sup>2</sup> eine vollständige Tumornekrose bis zu  
10 einer Tiefe von 20 mm beobachtet. Mit dem bekannten Komplex werden bei sonst gleichen Bedingungen Nekrosen nur bis zu einer Tiefe von 16 mm beobachtet, mit der entsprechenden Dosis von Chlorin E<sub>6</sub> allein ergab sich nur eine partielle Tumornekrose bis 7 mm Tiefe. Die Toxizität wurde als LD50 mit weniger als 140 mg/kg bestimmt. Das Chlorin E<sub>6</sub> wird zweckmä-  
15 ßig in Form eines Alkalisalzes eingesetzt. Auch die Derivate des Chlorin E<sub>6</sub> (13-Carboxy-17-[2-carboxyethyl]-15-carboxymethyl-17,18-transdihydro-3-vinyl-8-ethyl-2,7,12,18-tetramethylporphin), wie z.B. die entsprechenden 15-Carboxyethoxymethyl oder 15-Formylverbindungen, die alle natürlich als Begleitstoffe des Chlorin E<sub>6</sub> vorkommen, sind in gleicher Weise geeig-  
20 net. Insbesondere können auch Mischungen des Chlorins E<sub>6</sub> mit seinen Derivaten im erfindungsgemäßen Komplex enthalten sein.

Das erfindungsgemäße Mittel wird normalerweise in Form einer injizierbaren Lösung verabreicht. Es ist jedoch auch eine Einarbeitung in Salben oder  
25 Liniments zur direkten Aufbringung auf die Haut möglich. Als Dosierung wird eine Menge von 0,5 bis 10 mg/kg, vorzugsweise 1 bis 7 mg/kg empfohlen.

30 Es ist auch möglich, das erfindungsgemäße Mittel in flüssigen oder halbfe-  
sten pharmazeutischen Formulierungen zuzubereiten. Besonders bevorzugt

- 5 -

sind Formulierungen zur topischen, intravenösen und/oder systemischen Verabreichung, insbesondere für systemische und/oder lokale Wirkung.

5 Im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung wurde auch gefunden, dass sich Chlorin E<sub>6</sub> zur Herstellung von Arzneimitteln für andere Anwendungen als bei Tumorerkrankungen eignet.

10 Überraschenderweise hat sich gezeigt, dass Chlorin E<sub>6</sub> eine gute Wirksamkeit auf der Haut zeigt, sodass mit Chlorin E<sub>6</sub>- und PVP-haltigen Mitteln Hauterkrankungen gut behandelt werden können, sowohl als Präventionsmaßnahmen, als auch zur Therapie. Insbesondere wirkt Chlorin E<sub>6</sub>-PVP bei Pilzkrankungen, sowie bei Psoriasis und ähnlichen Hauterkrankungen. Es ist wirksam gegen Dermatophyten, Schimmelpilze und Hefen.

15 Des Weiteren hat sich auch gezeigt, dass Chlorin E<sub>6</sub> überraschenderweise zur Epilierung, d.h. zur Haarentfernung geeignet ist.

20 Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist somit ein Mittel zur prophylaktischen oder therapeutischen oder kosmetischen Behandlung der Haut, insbesondere zur Behandlung von Pilzkrankungen der Haut, Psoriasis oder zur Haarentfernung, wobei das Mittel Chlorin E<sub>6</sub> und PVP in einem beliebigen Mischungsverhältnis umfasst. Die Gewichtsverhältnisse der beiden Komponenten können einen Überschuss von Chlorin E<sub>6</sub> oder auch einen Überschuss von PVP umfassen. Geeignet sind insbesondere Gewichtsverhältnisse von Chlorin E<sub>6</sub> zu PVP von etwa 1 : 0,1 bis zu einem beträchtlichen Überschuss von Polyvinylpyrrolidon im Vergleich zu Chlorin E<sub>6</sub>, insbesondere bis zu 1:25. Besonders bevorzugt sind Gewichtsverhältnisse von 1 : 1. Aber auch Verhältnisse von 1 : (≥ 1,5), 1 : 5 oder 1 : 10 oder 1 : 15 sind geeignet für die genannten Anwendungen.

30 Die nachstehenden Beispiele erläutern die Wirksamkeit des erfindungsgemäßen Mittels im Vergleich mit einem bekannten Mittel gemäß russi-

- 6 -

schem Patent Nr. 2152790 bezüglich Tumorwirksamkeit, sowie die Wirksamkeit von Chlorin E<sub>6</sub> zur Behandlung der Haut.

#### Beispiel 1

5 Es wurde untersucht ein als Fotolon bezeichnetes Mittel gemäß russischem Patent Nr. 2152790 mit der Zusammensetzung Chlorin E<sub>6</sub> : Polyvinylpyrrolidon im Gewichtsverhältnis 1:1 und ein erfindungsgemäßes Mittel in der Zusammensetzung Chlorin E<sub>6</sub> : Polyvinylpyrrolidon im Gewichtsverhältnis 1:10.

10 Die Untersuchungen wurden an 12 weißen rasselosen Ratten mit einem Gewicht von 150 bis 180 g mit intraabdominal transplantierten Lymphosarkom Pliss durchgeführt. Am 5. Tag nach der Tumortransplantation wurden allen 4 Tiergruppen (3 Ratten in jeder Gruppe pro Präparat) intravenös  
15 Fotolon bzw. das erfindungsgemäße Mittel in einer Dosierung von 5,0 mg/kg Körpergewicht verabreicht.

Die Anreicherungsdynamik des Fotolons bzw. des erfindungsgemäßen Mittels, wurde in den Tumorgeweben der Ratten (Lymphosarkom Pliss) und  
20 den gesunden Geweben (in der gegenüberliegenden Haut des Oberschenkels) mit Hilfe computergesteuerter Fluoreszenzspektrophotometrie mit dem Analysator "LESA-6" (diagnostischer Laser "LGH 633-25" (Figur 1) beobachtet.

25 Die Messungen wurden jede Stunde im Laufe von 8 Stunden nach der Verabreichung der Präparate und nach 24 Stunden durchgeführt.

In den Tabellen 1 bis 4 sind die individuellen und mittleren Anreicherungsdaten des Präparates bei den 12 Ratten dargestellt.

30

- 7 -

**Tabelle 1: Anreicherungsdynamik des Fotolon in den gesunden Geweben bei Ratten mit Lymphosarkom Pliss**

	Zeit	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	8h	24h
5	Nr. 1	372	913	1067	996	889	823	829	760	495
		423	839	929	992	880	817	858	758	473
		380	806	852	939	907	835	855	766	511
		391	902	936	1004	898	829	832	773	507
		536	897	934	965	876	836	806	797	489
10	Nr. 2	411	526	699	662	663	616	637	563	512
		380	588	712	628	685	683	631	608	587
		372	620	734	770	714	658	653	671	560
		498	576	714	691	699	689	661	594	545
		546	689	687	743	684	611	621	562	590
15	Nr. 3	506	782	811	843	775	755	709	712	534
		428	689	756	767	680	631	642	584	525
		398	652	721	735	669	667	653	611	536
		411	793	811	892	721	688	696	646	587
		402	746	809	857	704	691	678	623	544
20	X±	430,3	731,2	811,5	832,3	762,9	721,9	717,8	668,5	533,1
	Sx	15,6	33,03	28,9	33,2	24,9	30,0	23,3	21,8	9,5



**Tabelle 2: Anreicherungsdynamik des Fotolon in dem Tumorgewebe bei den Ratten mit Lymphosarkom Pliss.**

5	<b>Zeit</b>	<b>1h</b>	<b>2h</b>	<b>3h</b>	<b>4h</b>	<b>5h</b>	<b>6h</b>	<b>7h</b>	<b>8h</b>	<b>24h</b>
	Nr. 1	1428	2422	3690	4030	3646	3178	2470	2205	1465
		1318	2359	3448	4209	3212	3017	2375	2214	1403
		1351	2218	3528	4028	3106	2990	2242	2205	1492
		1557	2330	3466	4250	3624	3105	2386	2101	1468
10		1458	2221	3322	4194	3514	2998	2237	2138	1403
	Nr. 2	1066	1561	2533	2895	3324	2810	2213	2111	1564
		1077	1694	2538	2951	3291	2888	2115	2016	1684
		1044	1850	2771	3083	3278	2967	2253	2117	1614
		1121	1993	2649	2825	3127	2930	2178	2005	1588
15		1096	1843	2651	3136	3184	2803	2169	2104	1560
	Nr. 3	1223	2113	3246	3784	3113	2835	2340	2111	1623
		1325	2235	3126	3630	3087	2769	2254	2147	1648
		1267	2156	3090	3475	2970	2834	2365	2138	1705
		1284	2173	3117	3657	2785	2812	2411	2119	1655
20		1311	2328	3215	3712	3116	2809	2365	2108	1589
	<b>X±</b>	1261,7	2099,7	3092,7	3590,6	3225,1	2916,3	2293,1	2125,9	1569,8
	<b>Sx</b>	40,2	66,4	98,1	130,6	60,3	31,7	26,9	16,9	23,1

**Tabelle 3: Anreicherungsdynamik des Mittels gemäß der Erfindung im gesunden Gewebe der Ratten mit Lymphosarkom Pliss**

5	<b>Zeit</b>	<b>1h</b>	<b>2h</b>	<b>3h</b>	<b>4h</b>	<b>5h</b>	<b>6h</b>	<b>7h</b>	<b>8h</b>	<b>24h</b>
	<b>Nr. 1</b>	666	744	988	1105	1120	1141	1045	911	712
		673	735	963	1138	1163	1108	997	932	795
		636	721	1012	1120	1102	1128	1102	914	773
		612	691	996	1163	1109	1120	1008	990	689
10		644	696	925	1132	1195	1137	989	911	704
	<b>Nr. 2</b>	788	813	1131	1231	1247	1174	1115	1076	811
		749	829	1115	1215	1275	1182	1095	938	773
		805	825	1109	1209	1258	1246	1117	990	735
		731	818	1098	1298	1307	1214	1003	895	791
15		707	793	1150	1250	1258	1185	990	978	806
	<b>Nr. 3</b>	698	788	946	1121	1137	1210	1118	1026	921
		712	813	938	1132	1182	1289	1045	966	885
		722	768	980	1098	1148	1303	1132	992	830
		741	824	1034	1117	1163	1241	1067	969	813
20		708	775	1057	1134	1190	1266	1054	973	867
	<b>X±</b>	706,1	775,5	1029,5	1164,2	1189,9	1196,3	1058,5	960,1	793,7
	<b>Sx</b>	13,9	12,3	19,5	15,7	16,6	16,3	13,5	12,7	17,2

**Tabelle 4: Anreicherungsdynamik des Mittels gemäß der Erfindung im Tumorgewebe der Ratten mit Lymphosarkom Pliss**

5	<b>Zeit</b>	<b>1h</b>	<b>2h</b>	<b>3h</b>	<b>4h</b>	<b>5h</b>	<b>6h</b>	<b>7h</b>	<b>8h</b>	<b>24h</b>
	Nr. 1	2453	3776	6898	7683	8934	9115	7770	6235	3501
		2378	3930	6979	7326	8930	9087	6823	5167	3639
		2346	3979	6815	7435	8805	8992	7590	5208	3603
		2482	3831	6723	7762	8980	9046	6805	5330	3654
10		2398	3678	6516	7996	8902	9087	7672	4289	3625
	Nr. 2	2662	3890	6930	8096	9112	9207	7012	5654	3701
		2696	4012	6914	8135	9289	9246	7046	5720	3790
		2524	3965	6918	8248	9293	9301	7994	5612	3794
		2483	3894	6896	8113	9307	9412	7023	5750	3845
15		2708	3979	6727	8260	9315	9385	7110	5711	3810
	Nr. 3	2776	4112	7313	9080	9224	9305	7087	4693	4025
		2730	4102	7222	9217	9336	9378	7116	5166	3986
		2560	4137	7290	9112	9217	9402	7023	5668	3912
		2684	3980	7572	9304	9341	9235	7114	5713	4048
20		2712	4047	7284	9132	9304	9198	7200	4690	4115
	X±	2572,8	3954,1	6999,8	8326,6	9151,9	9226,4	7225,7	5373,7	3802,5
	Sx	37,3	32,8	72,4	174,1	49,1	35,6	91,9	132,3	47,8

Die Analyse der erhaltenen Ergebnisse bestätigt, dass eine wesentlich verbesserte selektive Speicherung im Tumorgewebe der Ratten beim Mittel gemäß Erfindung zu beobachten ist - siehe Figur 1 und 2 der Zeichnungen.

**Tabelle 5: Koeffizient der Anreicherungsselektivität des Fotolon**

30	<b>Zeit</b>	<b>1h</b>	<b>2h</b>	<b>3h</b>	<b>4h</b>	<b>5h</b>	<b>6h</b>	<b>7h</b>	<b>8h</b>	<b>24h</b>
	Tumor	1261,7	2099,7	3092,7	3590,6	3225,1	2916,3	2293,1	2125,9	1569,8
	Ober-schenkelhaut	430,3	731,2	811,5	832,3	762,9	721,9	717,8	668,5	533,1
35	Koeffi-zient	2,93	2,87	3,81	4,31	4,23	4,04	3,19	3,18	2,94

**Tabelle 6:** Koeffizient der Anreicherungsselektivität des Mittels gemäß Erfindung

Zeit	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	8h	24h
Tumor	2572,8	3954,1	6999,8	8326,6	9151,9	9226,4	7225,7	5373,7	3802,5
Ober-schen- kel-haut	706,1	775,5	1029,5	1164,2	1196,3	1196,3	1058,5	960,1	793,7
Koeffi- zient	3,64	5,23	6,80	7,15	7,69	7,71	6,83	5,60	4,79

### Beispiel 2

#### **Tumoruntersuchungen**

- präklinische Untersuchungen von Fotolon (Chlorin E<sub>6</sub> - PVP 1:10) bezüglich Phototoxizität im HET-CAM-Assay

Der HET-CAM (Chorio-Allantois-Membran)-Bioassay ist von Bedeutung für die Evaluierung von Effekten auf Gefäße und transplantierte Tumore im Rahmen der photodynamischen Therapie. Der Assay bietet den Vorteil gegenüber Tiermodellen, nicht-invasiv in vivo morphologische Gefäßveränderungen und Veränderungen in der Blutperfusion/Zirkulation qualitativ und quantitativ zu erfassen. Zur Untersuchung der Wirkung von phototoxischen Substanzen am bebrüteten Hühnerei bestehen zahlreiche Möglichkeiten des Versuchsansatzes bezüglich der Applikationslokalisation, des Applikationszeitpunktes und der Kriterien bei der Befunderhebung und Auswertung.

Als Applikationsort wurde die CAM als ein Teil des extraembryonalen Gefäßsystems ausgewählt. Die CAM ist stark vaskularisiert, transparent und entwickelt sich sehr dynamisch zwischen Tag 3 und 12.

Es wurde in den ersten Untersuchungen ein Vergleich zwischen Photosan-3 (Hämatoporphyrinderivat), Firma Seehofer Laboratorium GmbH und Foto-

Ion (Chlorin E<sub>6</sub> - PVP 1:10) bezüglich Toxizität ohne Bestrahlung, variabler Lichtdosis und variabler Photosensitizerkonzentration durchgeführt.

Als Ergebnisse konnten bisher festgestellt werden:

5

- bei Fotolon tritt keine Toxizität ohne Bestrahlung auf
- es wurde eine dosisabhängige Phototoxreaktion in Abhängigkeit von der Fotolonkonzentration und der Lichtdosis bei gleicher Leistungsdichte festgestellt.

10

### Beispiel 3

#### **Anwendungserweiternde Untersuchungen**

Um die bessere Wirksamkeit des Fotolons (als Kombination von Chlorin E<sub>6</sub> und PVP in verschiedenen Zusammensetzungen, u.a. 1:1, 1:10) im Vergleich zu reinem Chlorin E<sub>6</sub> zu bestimmen, wurden erst einmal Untersuchungen mit reinem Chlorin E<sub>6</sub>, ohne Zusatz von PVP, durchgeführt. Dazu zählen:

15

1. die Behandlung von Psoriasis
  - 20 2. die Behandlung von humanen Pilzerkrankungen in vitro und in vivo (Fußpilz)
- und
3. die Epilierung von Haaren.

20

und

#### ***Die Behandlung von Psoriasis:***

25

Das Chlorin E<sub>6</sub> wurde in einem Gel topisch auf die entsprechenden Hautflächen eines Patienten aufgetragen und 30 Minuten unter Okklusion, zum Einwirken, belassen. Die Bestrahlung erfolgte mit einem Laser bei einer Wellenlänge von 662 nm für 3 bis 5 Minuten und in einer Dosis von 36 bis 60 J/cm<sup>2</sup>. Im Vergleich dazu wurde eine UVB-Bestrahlung (ohne weiteren Zusatz eines Medikaments) von Psoriasis-geschädigten Hautflächen durchgeführt.

30

- 13 -

Als erstes Ergebnis kann eine schnellere Abheilung der mittels PDT behandelten Hautflächen genannt werden.

*Die Untersuchungen zur Behandlung humaner Pilzkrankungen laufen vereinfacht folgendermaßen ab:*

Patienten mit einer Pilzkrankung wird eine kleine Menge des Pilzgewebes zur pathologischen Bestimmung entnommen. Davon wird ein Teil in ein Nährmedium übertragen. Die daraus entstehenden Kolonien werden getrennt und separat einer photodynamischen Therapie (PDT) unterzogen.

Zur Vorbereitung der PDT werden die einzelnen Pilzkolonien mit einer Photosensibilisatorlösung überschichtet. Dabei variiert die Konzentration des Photosensibilisators in der Lösung (u.a. 5, 10, 20 % und ohne Photosensibilisatorlösung als Kontrolle), zur Feststellung des Konzentrationsbereiches in dem der Photosensibilisator wirkt. Nach 30 Minuten, in denen die Photosensibilisatorlösung auf die Pilzkulturen eingewirkt hat, wird bestrahlt. Es wird u.a. untersucht, mit welcher Häufigkeit man die Bestrahlung in welcher Stärke wiederholen muss, um eine ausreichende Wirksamkeit zu erreichen.

Es wurden bisher folgende Pilzarten in die PDT mit Chlorin E<sub>6</sub> einbezogen:

**Schimmelpilze: *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium species*, *Mucor species***

**Hefen: *Candida albicans*, *Candida glabrata***

**Dermatophyten: *Trichophyton rubrum*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes***

Die Ergebnisse können folgendermaßen bewertet werden:

Die photodynamische Therapie zeigte den größten Einfluss bei der Behandlung von Dermatophyten. Die besten Ergebnisse erhielt man bei den Pilzkul-

turen **Trichophyton mentagrophytes** und **Trichophyton rubrum**. Auf die Pilzkultur **Microsporum gypseum** hatte hingegen die PDT keinen wesentlichen Einfluss.

5 Unter den verschiedenen Schimmelpilzen, kann man eine sichtbare Wirksamkeit der photodynamischen Therapie auf die Pilzkulturen **Penicillium species**, **Aspergillus fumigatus** und **Aspergillus niger** beobachten. Die Pilzart **Mucor species** war hingegen empfindlich gegen PDT.

10 Verschiedene Ergebnisse erhielt man auch bei den Hefen. Bei der Behandlung von **Candida albicans** hatte die PDT einen großen Einfluss (die bestrahlten Kolonien sind vollständig abgestorben). Die Pilzkultur **Candida glabrata** waren jedoch bis zum Ende der Therapie unempfindlich gegen PDT.

15 Die Behandlung eines Patienten mit Fußpilz (**Aspergillus fumigatus**) durch Chlorin E<sub>6</sub> mit anschließender Bestrahlung zeigte eine Rückbildung des Pilzes. Das Chlorin E<sub>6</sub> wurde in ein handelsübliches Gel eingearbeitet und topisch appliziert. Weitere Parameter der Therapie waren: Chlorin E<sub>6</sub>-Konzentration = 0,2 %, als Lichtquelle diente ein Laser mit einer Bestrahlungswellenlänge von 662 nm und einer Leistung von 200 mW, die Anzahl der  
20 Bestrahlungen war 6, die Wiederholung der Bestrahlung erfolgte wöchentlich, Bestrahlungszeit: die ersten zwei Bestrahlungen 3 Minuten, die darauffolgenden vier Bestrahlungen 5 Minuten.

25 Jedoch bringt die Behandlung eines Patienten keine sicheren Aussagen zur tatsächlichen Wirksamkeit des Chlorin E<sub>6</sub>. In den Behandlungen mit Fotolon in unterschiedlichen Zusammensetzungen (1:1, 1:10) wird eine größere Patientenzahl in die Behandlung einbezogen.

30

*Die Epilierung von Haaren:*

Die Epilierung von Haaren erfolgte an unterschiedlichen Behaarungsflächen am Patienten. Das Chlorin E<sub>6</sub> wurde in ein handelsübliches Gel zu 0,1 % und 0,2 % eingearbeitet und auf die entsprechenden Hautpartien aufgetragen. Nach 30 Minuten Einwirkzeit wurde die behaarte Oberfläche mit einem Laser für 3 bis 5 Minuten und einer Energiedosis von 36 J/cm<sup>2</sup> oder 60 J/cm<sup>2</sup> bestrahlt. Die Haare wurden daraufhin entfernt (Rasierapparat, Pinzelle). Als Behaarungsfläche wurden der Brustkorb, die Leiste, die Oberlippe und der Unterbauch gewählt. Die Bestrahlung wurde in Abhängigkeit vom Behandlungserfolg einmal wöchentlich innerhalb von 2 bis 4 Wochen wiederholt.

## Folgende Ergebnisse wurden festgestellt:

- Brustkorb: die meisten Haare sind nicht nachgewachsen, die Haare, die nachgewachsen sind, sind sehr fein
- Leiste: die meisten Haare sind nicht nachgewachsen, die Haare, die nachgewachsen sind, sind sehr fein
- Oberlippe: die Haare sind nicht nachgewachsen
- Unterbauch: die Haare sind nicht nachgewachsen

Diese Ergebnisse zeigen die Wirksamkeit von Chlorin E<sub>6</sub> bei der Behandlung von Psoriasis, einzelner Pilzerkrankungen und der Epilierung.



### Ansprüche

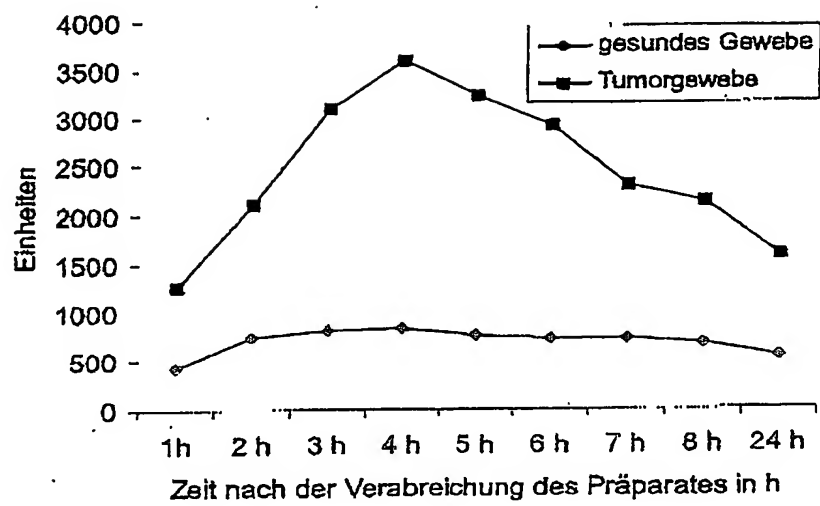
1. Mittel für die photodynamische Diagnostik und Therapie von Tumoren auf Basis von Porphyrinverbindungen und Polyvinylpyrrolidon,   
dadurch gekennzeichnet,   
dass der Anteil an Chlorin E<sub>6</sub> oder eines Derivats desselben im Verhältnis zu Polyvinylpyrrolidon 1 : (> 1,5) beträgt.
2. Mittel nach Anspruch 1,   
dadurch gekennzeichnet,   
dass das Gewichtsverhältnis von Chlorin E<sub>6</sub> oder dessen Derivat zu Polyvinylpyrrolidon 1: (5 bis 25) beträgt.
3. Mittel nach Anspruch 1 oder 2,   
dadurch gekennzeichnet,   
dass das Gewichtsverhältnis Chlorin E<sub>6</sub> oder dessen Derivat zu Polyvinylpyrrolidon 1: (15 bis 25) beträgt.
4. Mittel nach einem der Ansprüche 1 bis 3,   
dadurch gekennzeichnet,   
dass das Polyvinylpyrrolidon 6 bis 12 kDa aufweist.
5. Verwendung von Chlorin E<sub>6</sub> und Polyvinylpyrrolidon zur Herstellung eines Mittels zur Therapie und/oder prophylaktischen und/oder kosmetischen Behandlung von der Haut.
6. Verwendung nach Anspruch 5 zur Therapie oder prophylaktischen Behandlung von Pilzerkrankungen der Haut, insbesondere von Erkrankungen, die durch Dermatophyten, Schimmelpilze und Hefen hervorgerufen werden.

- 17 -

7. Verwendung nach Anspruch 5 oder 6 zur Therapie oder prophylaktischen Behandlung von Psoriasis.
8. Verwendung nach Anspruch 5 zur Entfernung von Haaren.
- 5 9. Mittel zur prophylaktischen oder therapeutischen oder kosmetischen Behandlung der Haut, umfassend Chlorin E<sub>6</sub> und Polyvinylpyrrolidon.
- 10 10. Mittel nach Anspruch 9, umfassen Chlorin E<sub>6</sub> und Polyvinylpyrrolidon in einem Gewichtsverhältnis von 1: (0,1 bis 25).
11. Mittel nach Anspruch 9 oder 10, wobei das Gewichtsverhältnis von Chlorin E<sub>6</sub> und Polyvinylpyrrolidon im Bereich von 1: (1 bis 25) liegt.

1/2

Figur 1: Anreicherung des Fotolon im Lymphosarkom Pliss und gesunden Gewebe



2/2

Figur 2: Anreicherung des Mittels gemäß Erfindung im Lymphosarkom Pliss und gesunden Gewebe

